

## POLYCLONAL IMMUNOGLOBULIN FOR INTRAVENOUS ADMINISTRATION CONTAINING IGM AND ITS PREPARATION

**Publication number:** JP2078635 (A)

**Publication date:** 1990-03-19

**Inventor(s):** UORUFUGANGU MERAA; HERUBERUTO  
DEIHITERUMIYUURAA; NORUBERUTO KOOTE; DEITAA  
RUDONIKU; DETOREFU PIECHYAKUTSUEKU

**Applicant(s):** BIOTEST AG

**Classification:**






- **international:** **A61K39/395; C07K16/12;** A61K38/00; **A61K39/395;**  
**C07K16/12;** A61K38/00; (IPC1-7): A61K39/395

- **European:** A61K39/395S; C07K16/12

**Application number:** JP19890192814 19890727

**Priority number(s):** DE19883825429 19880727

**Also published as:**

 JP6062437 (B)  
 JP1935013 (C)  
 EP0352500 (A2)  
 EP0352500 (A3)  
 EP0352500 (B1)

more >>

### Abstract of JP 2078635 (A)

**PURPOSE:** To produce intravenously administrable polyclonal immunoglobulin preparation containing IgM in high concentration, showing low anticomplement activities, stable in an aqueous solution and especially useful for treatment and prophylaxis of bacterial infections. **CONSTITUTION:** An immunoglobulin-containing fraction of human, animal or bacterial provenance is treated with an anion exchanger to bind the IgM, further eluted with a saline or pH gradient.; The elute is ultra-filtrated to condense the elute, further gel-filtrated, and treated with  $\beta$ -propiolactone and PEG 400 before or after an anion exchange chromatography or gel-filtration, and optionally heated to provide an intravenously administrable polyclonal immunoglobulin preparation (i) containing at least 50wt.% IgM based on the momental total content of immunoglobulin, (ii) showing low anticomplement activities, (iii) stable in an aqueous solution and (iv) including no virus.

.....  
Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

## ⑫ 公開特許公報(A) 平2-78635

⑤ Int. Cl.<sup>5</sup>

A 61 K 39/395

識別記号

W

庁内整理番号

8829-4C

⑬ 公開 平成2年(1990)3月19日

審査請求 有 請求項の数 14 (全9頁)

⑭ 発明の名称 I g Mを含有する静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物およびその調製法

⑮ 特 願 平1-192814

⑯ 出 願 平1(1989)7月27日

優先権主張 ⑰ 1988年7月27日 ⑱ 西ドイツ(DE) ⑲ P3825429.8

⑳ 発 明 者 ウォルフガング メラ ドイツ連邦共和国 デー - 6370 オーベルウルセル グ  
ラフーフオン - スタオフエンベルクストラーセ 32

㉑ 出 願 人 ビオテスト ファルマ ドイツ連邦共和国 デー - 6072 ドライアイヒランドスタ  
ゲゼルシャフト ミ  
ット ベシユレンクタ  
ー ハフツング

㉒ 代 理 人 弁理士 北村 欣一 外3名  
最終頁に続く

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

I g M を含有する静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物およびその調製法

## 2. 特許請求の範囲

1. バクテリアの感染の処置および予防のための静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物であって、

イ) 免疫グロブリンの瞬間の合計含量に基づいて少なくとも50重量%のI g M を含有し、

ロ) 低い抗補体活性を示し、

ハ) 水溶液中で安定であり、

ニ) ウイルスを含有しない、

ことを特徴とする静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物。

2. いく種類かのモノクローナルI g M 抗体の混合物から成ることを特徴とする、上記第1項記載の免疫グロブリン調製物。

3. また、1種または2種以上の免疫グロブリン抗体を含有することを特徴とする、上記第1項

または2項記載の免疫グロブリン調製物。

4. また、追加のタンパク質、好ましくはヒトアルブミン、糖、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を含有することを特徴とする、上記第1～3項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物。

5. 1～20 g / 100 ml、好ましくは3～5 g / 100 ml のタンパク質濃度をもつ溶液の形態であることを特徴とする、上記第1～4項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物。

6. ヒト、動物、またはバクテリア起源の免疫グロブリン含有血漿分画から分離することを特徴とする、上記第1～5項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物を調製する方法。

7. 免疫グロブリン含有分画をアニオン交換体で処理し、これを生理的塩類溶液またはpH勾配で溶離し、溶出液をゲル濾過し、アニオン交換クロマトグラフィーまたはゲル濾過の前または後に、β-プロピオラクトンおよびPEG400で処理し、そして必要に応じて加熱することを特徴とする、

上記第6項記載の方法。

8. アニオン交換体は、DEAE-トリスアクリル (Trisacryl) -LS、QA-トリスアクリル (Trisacryl) またはQMA-アクセル (Accell)であることを特徴とする、上記第7項記載の方法。
9. ゲル濾過のためのゲルはセファクリル (Sephacryl) S400HR または S300HRであることを特徴とする、上記第7または8項記載の方法。
10. 調製物を、アニオン交換クロマトグラフィーまたはゲル濾過の前または後に、 $\beta$ -プロピオラクトンで、あるいは $\beta$ -プロピオラクトンおよび紫外線で、および0～10℃、好ましくは5℃、およびpH 4.5～5において3%のPEG400で、処理することを特徴とする、上記第7～9項のいずれかに記載の方法。
11. 加熱を0.5～5時間、40～60℃において、好ましくは1時間、57℃において実施することを特徴とする、上記第7～10項のいずれかに記載の方法。
12. 調製物を、ゲル濾過の前または後に、溶媒お

よび洗浄剤、好ましくはトリ-*n*-ブチルホスフェートおよびツイーン (Tween) 80で処理することを特徴とする、上記第7～11項のいずれかに記載の方法。

13. 調製物を、ゲル濾過の前または後に、低温殺菌することを特徴とする、上記第7～11項のいずれかに記載の方法。
14. タンパク質、好ましくはヒトアルブミン、糖、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を調製物に添加することを特徴とする、上記第7～11項のいずれかに記載の方法。

### 3. 発明の詳細な説明

(従来の技術並びに発明が解決しようとする課題)

免疫グロブリンは、ヒトにおける感染を防除するうえで重要な役割を演ずる。免疫グロブリンは均一な物質でなく、そして種々の生化学的および生理学的性質をもつ種々のクラスに割り当てることができる。ウイルス因子に対する防御に参加するのは本質的にIgGであるが、IgM抗体は好ましくはバクテリアの感染を防除する。

そのペンタマーの構造のために、IgMはバクテリアの凝集にことに適する。それは、また、IgGより100～400倍補体を活性化し、そしてモノマーのIgGの100倍のバクテリアに対するオプソニン作用を有する。

IgMを含有するタンパク質の投与は、バクテリアの感染に対して殊に有効である。免疫グロブリン調製物は、広い範囲の病気の処置および予防に臨床的に30年間有効に使用されてきている。しかしながら、これらの物質は際だって厳格なIgMの調製物であり、微量のIgAおよびIgMを含有することがある。最初の調製物は筋肉内にのみ適合性であったが、静脈内IgG調製物は、また、20年以上にもわたり入手可能である。抗補体活性を減少する方法、それゆえ静脈内適合性を保証する方法における工程は、[Schultz, H.E.およびSchwick, G., Dtsch.med.Wochenschrift 87(1962)、1643; Barandun, S. et al., Vox Sang. 28 (1957)、157; Barandun, S. et al., Vox Sang. 7 (1962)、187; Stephan、

W., Z.Klin.Chem.Klin.Biochem. 7(1969)、282]に記載されている。

これらの方法のすべては1980年までIgGに限定され、最初であって現在まで、静脈内に適合性のIgG調製物 [ペンタグロビン (Pentaglobin)<sup>(R)</sup>] の例のみが欧州特許 (EP) 13 901号に記載された。この免疫グロブリン調製物は、0.05～0.15%の $\beta$ -プロピオラクトンで処理されて静脈内適合性とされ、10%のIgMに加えて、80%のIgGおよび10%のIgAを含有する。

他の免疫グロブリン調製物、例えば、フィンランド国特許 836 831号およびドイツ国特許 2 404 265号に記載されているものは、IgMが20～30%に濃縮されているが、静脈内適合性ではない。

バン・デル・ハウフェン (Van der Hofen)、Immunochemistry 10(1973)、107-114に記載されているもののような免疫学的に純粋なIgM調製物は、高い抗補体活性をもつために、静脈内投与に適さず、したがってバクテリアの感染を処

置するためにこれまで利用されてきていない。

20%以上のIgMを含有する調製物の投与のこれまでの唯一の道筋は筋肉内であった。この方法は非常に痛いばかりでなく、かつまたより多い量のIgMを投与するために使用することができず、IgMの血液中の濃度は有意に高くない。

本発明の目的は、バクテリアの感染の処置および予防において静脈内投与に適当な、高い純粋のIgM濃縮物を利用可能とすることである。

(課題を解決するための手段並びに作用、効果)

この目的は、全体の免疫グロブリン含量に基づいて少なくとも50重量%のIgMを含有し、低い抗補体活性を有し、そして水溶液において安定でありかつウィルス含有しない免疫グロブリン調製物を使用して達成される。このタイプの調製物は、ヒト、動物、またはバクテリア起源の血漿または他の源から、イオン交換体で処理し、生理的塩類溶液の勾配またはpHの勾配で交換体を溶離し、そしてゲルで尹過し、ここで

適合性であることが発見された。この結果は、90%のIgGおよびIgAでさらに安定化される、わずかにほぼ10%のIgM溶液に関する欧州特許13 901号中の情報からでさえ、予測することができなかった。

本発明による抗バクテリア効果は、欧州特許13 901号に記載される10% IgM調製物のそれと、動物試験において比較した。驚くべきことには、本発明による調製物の効果は、そのIgMの含量から予測できるものよりも高かった。IgM濃縮物の抗バクテリア効果はIgGおよびIgAの濃度を減少することによって増加できるということは、完全に予測されなかった。換言すると、IgMの比濃度は、できるだけIgGおよびIgAがほとんど存在しないとき、とくに有効である。

このタイプの効果は、現在の技術水準において調製されるIgMでは達成することができない。なぜなら、筋肉内に投与するためには少なすぎるか、あるいはIgGおよびIgAの比率が高すぎるからである。

β-プロピオラクトンで処理し、PEG4000で沈澱させ、そして必要に応じて、クロマトグラフィーの前または後に、加熱することによって調製することができる。これらの手順に引き続いて、それら自体既知の手段、例えば、β-プロピオラクトンおよび紫外線による処理、あるいは溶媒および洗浄剤による処理を実施することができ、これらは、また、滅菌の機能を満足する。

また、いくつかのIgM抗体の混合物から調製物を調製するか、あるいは、ちょうど上に述べた方法により調製された調製物に1種または2種以上の抗体を添加することができる。

IgMの濃縮物は好ましくは少なくとも50%である。注射可能な調製物は、1~20g/100ml、好ましくは3~5g/100mlの本発明による調製物を含有する溶液である。

驚くべきことには、本発明の方法により調製されかつ50%より多いIgMを含有する調製物の抗補体活性は非常に低いので、調製物は静脈内

本発明による調製物の調製方法を下に説明する。

IgMを含有する分画、好ましくはコーン(Cohn)アルコール分画により得られるコーン分画II、あるいは血液からのIgGのクロマトグラフィーの分離の間に生ずるIgM分画を、1~5%、好ましくは2.5%のカプリル酸で沈澱させる。IgMを含有する残留物をアニオン交換体、例えば、DEAE、QAEまたはQMAの群にpH5.5~7.5において適用する。IgM分画は結合するようになり、そして生理的塩類溶液の勾配またはpHの勾配で溶離する。限外尹過による濃縮後、IgM溶出液をIgM溶液の100 ml当り0.05~5 mlのβ-プロピオラクトンで処理する。この反応は好ましくは20~37℃およびpH7.0~9.0、好ましくは8.0において1~10時間、β-プロピオラクトンが完全に消費されるまで、実施する。抗補体活性をさらに低下させるため、IgM溶液を1~3%のPEG 4000、好ましくは2.5% PEG 4000で0~10℃、好ましくは5℃、pH4.5~5

において処理し、そして沈澱を遠心分離する。

初期の抗補体活性が非常に高い場合、IgM 溶液は必要に応じて、また、40～60℃、好ましくは57℃に0.5～4時間、好ましくは1時間加熱することができる。

この処理に引き続いて、濃縮物は全体の免疫グロブリンに基づいて50%以上の純度のIgMであろう。さらに精製するため、この溶液を500000D以上の排除限界をもつゲルクロマトグラフィー材料、例えばセファクリル(Sephacryl)S400HR またはS300HRまたはセファローズ(Sepharo-se) CL6Bのクロマトグラフィーにかけることができる。抗補体活性を減少するための手段は、また、事なる順序で実施することができる。β-プロピオラクトンを使用する処理は、例えば、排除クロマトグラフィー後のアニオン交換クロマトグラフィーおよび加熱の前に実施することができるか、あるいは加熱はβ-プロピオラクトンによる処理およびPEG4000による沈澱の前に実施することができる。

℃において攪拌し、そして遠心した。次いで、残留物をセファクリル(Sephacryl)S400HRの20ℓのカラムでクロマトグラフィーにかけた。第2分画はIgMを含有し、これを限外濾過し、そして濾過滅菌した。IgMの含量は85%であり、5%のIgGおよび9%のIgAを含有した。

#### 実施例 2

50ℓのヒト血漿から得られたプールを4℃において融解し、そして低温沈澱を分離した。PPSF因子をDEAEセファデックス(Sephadex)で除去し、そしてフィブリノーゲンを9%のエタノールによる沈澱によりpH5.3において除去した。残留する血漿を22ミリモルのトロメタミン/HClのイオン性環境にpH7.5において調節した。クロマトグラフィーを同一緩衝液で平衡化したDEAE-トリスアクリル(Trisacryl)-LSの10ℓのカラムで実施した。保持されたIgMを0.3モルの炭酸ナトリウムでpH7.0において溶離した。溶出液を25%のエタノールで-3℃およびpH7.5において沈澱させ、そして沈澱を0.1モルの酢

IgM分画を集め、既知の方法で加工し、そして濾過滅菌する。

#### (実施例)

本発明による調製方法を、次の実施例を参照して詳述する。

#### 実施例 1

1kgのコーンのペーストIIIを5ℓの0.1モルの酢酸塩緩衝液、pH5、中に溶解し、そして2.5%のカプリル酸で25℃において処理した。沈澱を4時間後遠心し、そして残留物を0.025モルのトロメタミンに対してpH6.5において透析した。この溶液を次いで同じ緩衝液中にQA-トリスアクリル(Trisacryl)-LSを備えた3ℓのカラムに加えた。IgMを吸着剤により保持し、そして0.3モルの塩化ナトリウムで溶離した。溶出液を40g/ℓのタンパク質含量に濃縮し、57℃に1時間加熱し、そして0.15%のβ-プロピオラクトンで25℃およびpH8.0において一夜処理した。次いで、この溶液を2.5g/100mlのPEG4000でpH4.5において処理し、1時間、4

酸塩緩衝液中にpH5において50g/ℓのタンパク質濃度に溶解した。この溶液を2.5%のカプリル酸で25℃およびpH5において処理し、そして沈澱を分離した。残留物を0.11%のβ-プロピオラクトンで5時間、25℃およびpH7において処理し、1時間、4℃において2.5g/100mlのPEG4000で沈澱させ、そして遠心した。残留物をセファクリル(Sephacryl)S400の20ℓのカラムで3回クロマトグラフィーにかけた。第2分画を限外濾過し、そして濾過滅菌した。この分画はIgMを93%の純度で含有し、そして2%のIgGおよび5%のIgAを含有した。全体の免疫グロブリン含量は100%であった。

#### 実施例 3

1kgのコーンのペーストIIIを実施例1に記載するようにカプリル酸で沈澱させ、そして残留物を0.025モルのトロメタミンに対してpH7.0において透析した。

IgMを吸着剤により保持し、1回カラムを0.05モルの酢酸ナトリウムでpH4.5において洗

浄した後、溶離した。溶出液をPEG4000 およびβ-プロピオラクトンで実施例1に記載するように処理した。残留物をセファデックス(Sephadex)G25の2ℓのカラムで再度緩衝化し、限界通過し、そして通過滅菌した。

IgM 含量は73%であり、20%のIgA および7%のIgGであった。合計の免疫グロブリン含量は100%であった。

β-プロピオラクトンの処理は、β-プロピオラクトンおよび紫外線を使用するか、あるいは洗浄剤および溶媒、好ましくはトリ-*n*-ブチルホスフェートおよびツイーン(Tween)80を使用する処理によるか、あるいは低温殺菌により達成することができる。この処理に引き続いて、加熱と同様に、また、ゲル通過を実施することができる。

タンパク質、好ましくはヒトアルブミン、糖、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を、また、調製物に添加することができる。

本発明により調製されたIgM濃縮物を、その

(調製物3)を、シュードモナス(*Pseudomonas*) [Stephan, W. および Dichtelmüller, H., 静脈内使用のための2つの7s免疫グロブリン調製物の生体外挙動および生体内効能の比較(Comparison of in vitro behaviour and in vivo efficacy of two 7s immunoglobulin preparations for intravenous use), *Arzneimittel Forschung./Drug Res.* 33(II)(1983), 11, 1538-40]で感染したマウスにおいて、ペンタグロビン(Pentaglobin)<sup>(R)</sup> (調製物1) およびIgG分画(調製物2)のそれらと比較した。表2は生存率を示す。

表 2

マウス予防試験の結果

No.	調製物	感染後21時間生存するマウス
1	ペンタグロビン	47.6
2	IgG 分画	33.3
3	IgM 濃縮物 (本発明)	66.7
4	未処理	9.5

出発材料、IgG、IgA およびIgM を含有する商業的に入手可能なペンタグロビン(Pentaglobin)<sup>(R)</sup>と、および同一出発材料から調製したIgG分画と比較した。結果は次の通りである。

### 1、参照調製物の特性づけ

免疫グロブリンIgG、IgA、およびIgMを抗血清を使用して比濁的に決定した。全体のタンパク質含量は、ビウレット(Biuret)法により決定した。個々の試験調製物についてのデータを表1に要約する。

表 1

試験調製物のデータ

No.	調製物	タンパク質 (g/l)	IgG (mg/100ml)	IgA (mg/100ml)	IgM (mg/100ml)
1	ペンタグロビン	51.5	3720	920	750
2	IgG 分画	48.9	3770	890	70
3	IgM 濃縮物	8.1	40	70	750

### 2、動物試験

本発明によるIgM濃縮物の抗バクテリア効果

したがって、本発明によるIgM濃縮物(調製物3)は、そのタンパク質濃縮物が1/5のみであってさえ、調製物1および2のそれらより有意に強力であり、予防作用を有する。

### 3、抗補体活性(ACA)の決定

抗補体活性は、カバット(Kabat)およびメイヤー(Mayer)の方法[Mayer, M.M., 補体および補体の固定(Complement and Complement fixation), Kabat, E.A. および Mayer, M.M. 編、実験免疫化学(Experimental Immunology)、第2版、Springfield, Ill., 1964, Thomas Book 133-240]により、静脈内適合性の尺度として、決定した。表3は、本発明によるIgM濃縮物のそれと比較して、商業的に入手可能な調製物を使用して得られた結果を要約する。すべての溶液は5%であった。

表 3

静脈内免疫グロブリン調製物の抗補体活性			
No.	調製物	IgM(%)	ACA(μl:30/μl タンパク質)
1	イントラグロビン	0	10
2	ペンタグロビン	10	25
3	IgM 濃縮物 (本発明)	75	25

## 4、ウイルス不活性化の試験

本発明によるIgM濃縮物を、Φ×174型バクテリオファージおよびセンダイ(Sendai)ウイルスで処理した。滅菌をβ-プロピオラクトン [Prince, A.M., Horowitz, B., Dichtelmüller, H., Stephan, W.およびGallo, R.C., HTLV-IIIの不活性化手順の評価についての定量的アッセイ: トリ(n-ブチル)ホスフェート、ナトリウムコレート、およびβ-プロピオラクトン(Quantitative assays for evaluation of HTLV-III inactivation procedures: Tri(n-butyl)phosphate, sodium cholate, and β-propiolactone), Cancer Research 45(1985), 4592s-4594s]、β-プロピオラクトン+紫外線 [Prince, A.M., Stephan, W., Dichtelmüller, H., Brotman, B., およびHuima, T., β-プロピオラクトンおよび紫外線照射の組み合わせた使用による非A/非B型肝炎ウイルスのハチンソン菌株の不活性化(Inactivation of the Hutchinson strain of non-A/non-B hepat

itis virus by combined use of β-propiolactone and ultraviolet irradiation), J. med. Virol. 16(1985), 119-25]、溶媒+洗浄剤(前記β-プロピオラクトンの文献を参照)または低温殺菌(80℃において10時間) [Helmburger, N., Wormsbacher, W., およびKumpe, G., 低温殺菌したイソアグリチニン不含因子-VIII調製物および調製方法、欧州特許出願第0173 242号(1985)]を使用して実施した。表4は結果を示す。

表 4

IgM濃縮物中のウイルスの不活性化

タンパク質 (g/100ml)	ウイルス	滅菌	不活性化 (log <sub>10</sub> +) )
4	Φ×174	BPL	>7
4	Φ×174	BPL+UV	7
0.5	センダイ	溶媒+洗浄剤	>4.5
5	Φ×174	低温殺菌	>8.0

結果は有効な滅菌を示し、表4に記載する方

法の1つにより滅菌したIgM濃縮物によるウイルスの伝達は防止することができる。

## 5、貯蔵寿命の試験

本発明のIgM濃縮物を、1.6%の溶液(1.2g/100 mlのIgM)の形態で57℃に4時間加熱した。それをバクテリアE.coli、クレブシエラ属(Klebsiella)、および連鎖球菌属(Streptococci)に対する抗体について、ネーテル(Neter)の受身赤血球凝集法(PHA) [Neter, E., Bact. Rev. 20(1956), 166]により試験した。表5は加熱の前または後の活性を示す。

表 5

ペンタグロビン(Pentaglobin)<sup>(R)</sup>と比較したIgM濃縮物の逆抗バクテリアー抗体力価

次の菌に対 する抗体	IgM	ペンタグ ロビン	IgM	ペンタグ ロビン
E.coli	640	160	320	160
Klebsiella	1280	640	640	320
Streptococci	320		160	
Step.virid.	320	160	160	40

本発明によるIgM濃縮物は、したがって、決定の方法の誤差の限界(±1力価段階)を仮定してその免疫学的活性に関して熱安定性である。それは寿命に関して、商業的に入手可能なIgM含有調製物ペンタグロビン(Pentaglobin)<sup>(R)</sup>と同様に挙動する。

特許出願人 ビオテスト ファルマ ゲゼルシャフト  
ミット ベシュレンクター ハフツング

代理人 北 村 欣 一 外3名



第1頁の続き

- ⑫発明者 ヘルベルト デイヒテ      ドイツ連邦共和国 デー - 6231      ズルツバツハ／デーエ  
ルミューラー      ス。ロセルトストラーセ 14
- ⑫発明者 ノルベルト コーテ      ドイツ連邦共和国 デー - 6242      クロンベルク フリー  
ドリツヒ - エベルト - ストラーセ 21
- ⑫発明者 デイーター ルドニク      ドイツ連邦共和国 デー - 6074      レーデルマルク ゲル  
リツツア ストラーセ 16
- ⑫発明者 デトレフ ビエチャク      ドイツ連邦共和国 デー - 6115      ミューンスターダルム  
ツエク      ステットター ストラーセ 54

## 手 続 補 正 書

平成 年 月 1.10.30  
21日

特許庁長官 殿

## 1. 事 件 の 表 示

平成1年特許願第 192814 号

## 2. 発 明 の 名 称

IgMを含有する静脈内投与のポリクローマル  
免疫グロブリン調製物およびその調製法

## 3. 補 正 を す る 者

事件との関係      特 許 出 願 人  
ビオテスト ファルマ ゲゼルシャフト  
ミット ベシュレンクター ハフツング

## 4. 代 理 人

東京都港区新橋2丁目16番1 ニュースビル703  
6002 弁理士 北 村 欣 一  
電話 503-7811番(代)

## 5. 補正命令の日付(自発)

平成 年 月 日



## 6. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄および発明の詳細な説明の欄

## 7. 補正の内容

1. 明細書の特許請求の範囲の欄を添付別紙の通り訂正する。
2. 同書第13頁第6行目の「含有した。」を「含有した。全体の免疫グロブリン含量は99%であった。」と訂正する。
3. 同書第13頁第18行目の「炭酸ナトリウム」を「塩化ナトリウム」と訂正する。
4. 同書第17頁第2行目、第19頁第5行目ないし同頁第6行目の各「Dichtemüller、」を夫々「Dichtemüller、」と訂正する。
5. 同書第19頁第12行目の「phosphacte、」を「phosphate、」と訂正する。
6. 同書第19頁第15行目ないし同頁第16行目の「Dichtemuler、」を「Dichtemüller、」と訂正する。
7. 同書第20頁第6行目の「Wormsbacher、」



を「Wormsbächer、」と訂正する。

## 2. 特許請求の範囲

1. バクテリアの感染の処置および予防のための  
静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調  
製物であって、  
イ) 免疫グロブリンの瞬間の合計含量に基づい  
て少なくとも50重量%のIgMを含有し、  
ロ) 低い抗補体活性を示し、  
ハ) 水溶液中で安定であり、  
ニ) ウイルスを含有しない、  
ことを特徴とする静脈内投与のポリクローナル  
免疫グロブリン調製物。
2. いく種類かのモノクローナルIgM抗体の混合  
物から成ることを特徴とする、上記第1項記載  
の免疫グロブリン調製物。
3. また、1種または2種以上のモノクローナル  
IgM抗体を含有することを特徴とする、上記第  
1または2項記載の免疫グロブリン調製物。
4. また、追加のタンパク質、好ましくはヒトア  
ルブミン、糖、好ましくはマルトース、または  
アミノ酸の混合物を含有することを特徴とする、

上記第1～3項のいずれかに記載の免疫グロブ  
リン調製物。

5. 1～20g/100ml、好ましくは3～5g/100ml  
のタンパク質濃度をもつ溶液の形態であること  
を特徴とする、上記第1～4項のいずれかに記  
載の免疫グロブリン調製物。
6. ヒト、動物、またはバクテリア起源の免疫グ  
ロブリン含有血漿分画から分離することを特徴  
とする、上記第1～5項のいずれかに記載の免  
疫グロブリン調製物を調製する方法。
7. 免疫グロブリン含有分画をアニオン交換体で  
処理し、これを生理的塩類溶液またはpH勾配で  
溶離し、溶出液をゲル濾過し、アニオン交換クロ  
マトグラフィーまたはゲル濾過の前または後に、  
β-プロピオラクトンおよびPEG400で処理し、  
そして必要に応じて加熱することを特徴とする、  
上記第6項記載の方法。
8. アニオン交換体は、DEAE-トリシアクリル  
(Trisacryl)-LS、QA-トリシアクリル(Trisa  
cryl)またはQMA-アクセセル(Accell)であるこ  
とを特徴とする、上記第7項記載の方法。
9. ゲル濾過のためのゲルはセファクリル(Sepha  
cryl)S400HRまたはS300HRであることを特徴と  
する、上記第7または8項記載の方法。
10. 調製物を、アニオン交換クロマトグラフィー  
またはゲル濾過の前または後に、β-プロピオ  
ラクトンで、あるいはβ-プロピオラクトンお  
よび紫外線で、および0～10℃、好ましくは5  
℃、およびpH 4.5～5において3%のPEG400で、  
処理することを特徴とする、上記第7～9項の  
いずれかに記載の方法。
11. 加熱を0.5～5時間、40～60℃において、好  
ましくは1時間、57℃において実施することを  
特徴とする、上記第7～10項のいずれかに記載  
の方法。
12. 調製物を、ゲル濾過の前または後に、溶媒お  
よび洗浄剤、好ましくはトリ-*n*-ブチルホス  
フェートおよびツイーン(Tween) 80で処理す  
ることを特徴とする、上記第7～11項のいずれか  
に記載の方法。

13. 調製物を、ゲル濾過の前または後に、低温殺菌することを特徴とする、上記第7～11項のいずれかに記載の方法。
14. タンパク質、好ましくはヒトアルブミン、糖、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を調製物に添加することを特徴とする、上記第7～11項のいずれかに記載の方法。